中華農業研究 (Jour. agric. Res. China) 32(4)：360～366 (1983)

臺灣水稻新病害—稻細菌性穀枯病[1]

簡錦忠　張義璋　廖英明　歐世璜[2]

摘要：本省中南部於1982年第二期作之乳熟期水稻發現一種穀粒新病害。被害穀粒初呈蒼白色漸變爲灰白色或淡黃褐色，內外穎先端或基部呈紫褐色，護穎常呈紫褐色至暗紫褐色，穗軸及枝梗則健全而呈綠色；罹病穀多呈不稔，若能稔實，其糙米大多萎縮畸形，一部分或全部變爲灰白色、黃褐色或濃褐色，患部與健全部界限明顯。由病穀上共分離得到13個細菌菌株，依照柯氏法則 (Koch's Postulates)，經二次接種及再分離之結果證實確爲本病之病原。選取 B_9、O_1 及 P_4 等3個菌株進行形態及生理試驗，本菌呈革蘭氏陰性、桿狀、鞭毛單極生、好氣性、在 NA 培養基上呈白色稠狀菌落，可液化白明膠，可還原 litmus milk 及 nitrate，可產生氨，可水解 Tween 80，有卵磷脂酵素作用，略可在4%食鹽下生長，Koras' oxidase activity 測試觀察20秒後呈正反應；methyl red test 及 arginine dihydrolase 爲負反應，不產生螢光色素、H_2S、indole 及 leavan。本菌最好的生長溫度爲28°C，最高生長溫度在40°C以上，最低溫度爲8～12°C。根據以上諸特性，本病原菌應屬 *Pseudomonas glumae* Kurita et Tabei.

1955年秋季日本福岡縣水稻 Benesengoku 品種在乳熟期的綠色稻穗上，有一半不稔穀粒之病變。後藤[5] 經鏡檢發現病組織有細菌溢出物，經分離接種後確定爲一種新的細菌性病害，1956年訂名爲「稻籾枯性細菌病」，同氏等並於1958年報告較詳細之分離接種結果，但未將病原細菌定名。至1967年栗田及田部[6] 方完成病原菌之生理特性試驗，認爲係一新種並訂名 *Pseudomonas glumae* Kurita et Tabei。據推測[2] 可能早於1950年即有本病發生，爾後每年發生面積差異甚大。最近因栽培方式之變遷，被害面積有增加之趨勢[2,3]，1975年日本九州北部約有9萬公頃發生，防治極爲困難[2]。植松[8,9] 又報告本病原菌可以引起育苗箱幼苗腐敗症，爲一新問題，頗受重視。

本省1982年第二期稻作在中南部地區之臺南5號及臺農67號水稻田，發現有類似後藤報告之穀枯病症。被害稻穀經鏡檢、分離、接種等試驗，證實確爲細菌所引起之穀枯病。茲將初步結果敍述之，以供參考。本試驗第二次接種用水稻蒙本所農藝系曾東海先生提供，謹此誌謝。

材料與方法

一、分離與接種：

分別由臺中及屏東採集病害稻穗，將罹病穀先以1%次氯酸鈉 (sodium hypochlorite) 表面消毒1分鐘，再以無菌水漂洗三次後，將穀粒剝開，其糙米及稻殼分別平放於 NA (nutrient agar) 平板上。或將表面消毒過之穀粒加無菌水磨碎，取其汁液在 NA 平板上劃線。上述平板置於室溫 (26±2°C) 下培養48小時，即可見圓形乳白色細菌菌落出現。挑取單一菌落以無菌水稀釋後，劃線純化連續共三次。由兩種分離方法共得到13個菌株，並參與試驗。純化後之菌株均以 NA 斜面培養保

1.臺灣省農業試驗所　研究報告第 1134 號。

2.本所植病系研究員、助理研究員、助理研究員及國科會特約講座。臺灣省　臺中縣　霧峰鄉。

存。

本試驗於1982年10月4日17時左右在本所農場稻田進行第一次接種，接種後分別套以塑膠袋5天或不套袋，另加套袋與不套袋兩個對照共4種處理。於同月21日17時左右，增加供試菌株進行重複試驗，本次接種後不套袋。兩次接種均以培養72小時之細菌斜面調製濃度約爲 10^8 個細菌／ml 懸浮液，以噴霧器均勻噴灑於抽穗期之稻穗上。

二、分離菌株之外形及生理特性：

由前項病原性測定後，選取具病原性之菌株包括 B_9、O_1 及 P_4 等共3個菌株，進行單菌落培養，並移植於NA 斜面，於 28°C 下培養 48 小時，供下列各項生理性質及外形觀察用。測定時參照 Munual of Microbiological Methods[12] 及富永氏[7]之方法進行。共計觀察及測定包括 cell shape, flagellum, Gram stain, relation to O_2, colony type, fluorescin, hydrolysis of gelatin, litmus milk action, reduction of nitrate, production of ammonium、indole、H_2S and leavan, acid from glucose、lactose、sucrose and rhamnose, methyl red test, Tween 80 hydrolysed, lecithinase activity, oxidase activity, arginine dihydrolase, 4% salt tolerance, growth rate 等項目，記錄時以正反應（positive, +）及負反應（negative, －）表示各項測定結果。

結　果

一、病徵：

細菌性穀枯病發生於水稻齊穗後，乳熟期之綠色穗中，有初呈蒼白色而且似缺乏水份狀萎凋的罹病穀粒。被害穀漸變爲灰白色或淡黃褐色，內外穎之先端或基部變紫褐色，護穎呈暗紫褐色。其穗軸及枝梗皆爲健全綠色（圖 1 A, C）。每一被害稻穗之罹病穀粒約爲 10～20 粒，但發病激烈則有一半以上之穀粒枯死。被害嚴重之稻穗呈直立狀而不易彎曲（圖 1 A）。罹病穀多呈不稔，若能稔實，其糙米大多萎縮且畸形，糙米之一部分或全部變爲灰白色，黃褐色或濃褐色，患部與健全部界限明顯，多呈褐或濃褐色帶狀之境界（圖 1 E）

表1. 細菌性穀枯病菌之病原性*

Table 1. The pathogenicity of *Pseudomonas glumae* on rice grains*.

處理 Treatment	正常穀粒百分率 % of normal grains		病害穀粒百分率 % of diseased grains		
	飽實粒 Full grains	空粒 Empty grains	半飽粒 Half-full grains	空粒 Empty grains	合計 Total
接種及套袋 Inoculated and covered	32.0c**	2.6	19.6h	45.8n	65.4z
接種未套袋 Inoculated only	67.3b	3.8	14.7h	14.1m	28.8y
套袋對照 Covered only	91.9a	8.1	0g	0l	0x
未套袋對照 Non-treated control	97.4a	2.6	0g	0l	0x
5% LSD	17.5	N. S.	6.6	12.8	15.1

*供試病原菌＝O_1菌株；供試水稻＝臺農67號。

The tested pathogen=isolate O_1; the tested rice=Tainung 67.

**英文字母相同者爲 FLSD 測試5%基準差異不顯著。

Numbers followed by the same letter are not signicantly different at the 5% level by FLSD Test.

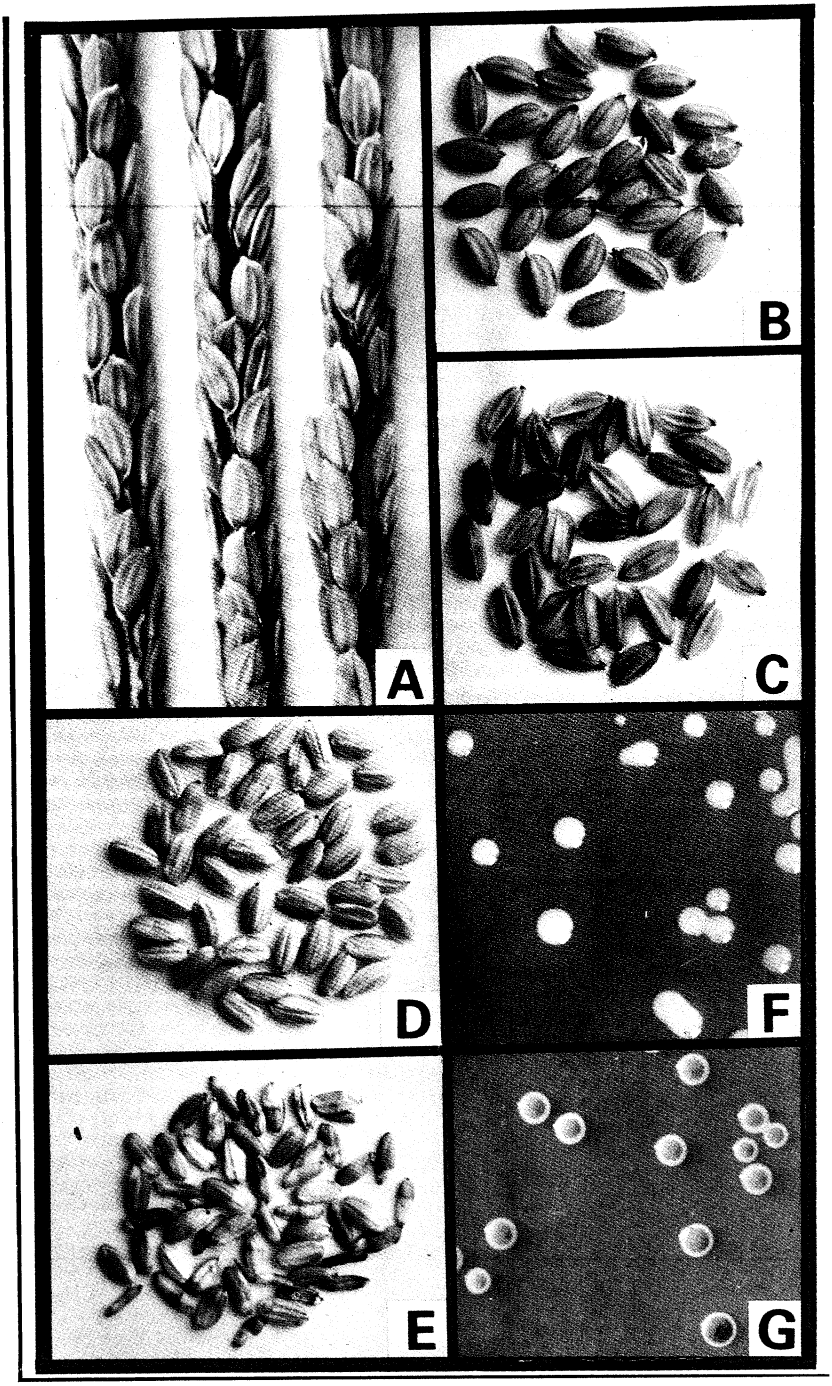

圖1. 乳熟期水稻細菌性穀枯病之病徵及病原菌之菌落形態。病穗（A）；健全（B）及被害（C）穀粒；健全（D）及被害（E）糙米；病原菌在 NA 培養基（F）及 TTC 培養基（G）上之菌落形態。

Fig. 1. Symptoms of bacterial grain rot of rice at milky stage and colony type of the pathogen.
Infected panicles (A) ; health (B) and infected (C) grains ; health (D) and infected (E) hulled rice ; colony type on nutrient agar (F) and triphenyl-tetrazolium-choloride medium (G), respectively.

表2. 不同菌株間病原性之差異*

Table 2. The difference of pathogenicity among the isolates of *Pseudomonas glumae**

菌株 Isolate	正常穀粒百分率 % of normal grains		病害穀粒百分率 % of diseased grains		
	飽實粒 Full grains	空粒 Empty grains	半飽粒 Half-full grains	空粒 Empty grains	合計 Total
B 3	53.6 cd**	21.8	4.7 h	19.9 mnop	24.6 stuv
B 5	55.3bcd	15.2	9.3hi	20.2 mnop	29.5 uv
B 6	75.9 ab	15.6	3.4 h	5.1 lm	8.5 rs
B 7	45.6 cd	19.0	8.2hi	27.2 opq	35.4uvw
B 8	66.1abc	18.1	8.7hi	7.1 lmn	15.8 rst
B 9	38.7 d	12.5	10.2hij	38.6 q	48.8 vw
B 10	58.2bcd	12.7	17.5jk	11.6 lmon	29.1tuv
B 11	38.5 d	13.6	14.2ijk	33.7 pq	47.9vw
B 12	56.5bcd	8.5	18.5 k	16.5 lmnop	35.0uvw
B 13	55.9bcd	13.9	14.7jk	15.5 lmno	30.2tuv
O 1	49.6 cd	9.9	15.7ijk	24.8 nopq	40.5vw
P 3	58.3bcd	21.1	3.5 h	17.1 lmnop	20.6stu
P 4	62.1 bc	5.6	18.5 k	13.8 lmno	32.3tuvw
C K	85.8 a	9.7	3.6 h	0.9 l	4.5 r
5% LSD	21.2	N. S.	8.1	17.8	17.7

*水稻供試品種＝臺農67號。
The tested variety of rice=Tainung 67.
**英文字母相同者爲 FLSD測試，5 %基準差異不顯著。
Numbers followed by the same letter are not significantly different at the 5% level by FLSD Test.

二、分離菌株病原性之測定：

第一次接種區於接種後15日，即10月19日調查；第二次接種區於第 25 日，即11月 15 日調查。兩次接種均得相同病徵，再分離亦得到相同之細菌。由第一次接種結果，發現接種後套塑膠袋之發病率65.4%，比未套袋處理28.8%，呈顯著差異，兩個對照均無被害。正常綠色不稔空粒，4 個處理間差異不顯著（表 1）。第二次接種結果顯示，菌株間病原性差異甚大，其中以 B_9 及 B_{11} 病原性最强，被害空粒及半飽粒百分率合計分別爲48.8及47.9%；B_6 最弱其發病率僅 8.5%與對照處理之自然被害率4.5%，差異不顯著。被害稻穀中半飽粒與空粒之比率，菌株間略有差異，菌株 B_9 之被害空粒達38.6%最多；被害半飽粒則以菌株 B_{12} 及 P_4 等 2 菌株各爲18.5%最高，詳如表 2 所示。

三、分離菌株之外形及生理特性：

供試 B_9, O_1 及 P_4 等菌株呈革蘭氏陰性反應，桿狀，鞭毛單極生，好氣性，在 NA 平板培養時呈白色稠狀菌落，在 TTC (triphenyl tetrazolium chloride) 培養基上形成中間粉紅外緣白色之菌落 (圖 1.F, G)；本菌不產生螢光色素，屬 non-fluoresence Pseudomonad；可液化白明膠，可還原 litmus milk 及 nitrate。可由葡萄醣 (glucose) 及乳醣 (lactose)，但不能由蔗糖 (sucrose) 及鼠李醣 (rhamnose) 產生酸。其他生理性質爲正反應的有產生氨 (ammonium) 、Tween 80 水解作用、卵磷脂酵素作用 (lecithinase activity) 及Koras' oxidase activity；負反應的有 methyl

red test、arginine dihydrolase。不能產生 fluorescin、H_2S、indole 或 leavan。略可在 4 %食鹽下生長。最好的生長溫度為 28°C，最高生長溫度在 40°C 以上，最低溫度為 8～12 °C。各生理特性詳見表 3 所列。

表3. 分離菌株與富永報告 *Pseudomonas glumae* 及 *Pseudomonas alboprecipitans* 之外形及生理特性比較。

Table 3. Comparison of morphological and physiological characteristics of present isolates with the reported *Pseudomonas glumae* and *Pseudomonas alboprecipitans*.

特 性 Characteristics	(富永)[7] (Tominaga)[7] *P. glumae*	分離菌株 Present isolates* (3 isolates)	(富永)[7] (Tominaga)[7] *P. alboprecipitans*
Cell shape	rod	rod	rod
flagellum	polar	polar	polar
Gram stain	—	—	—
Relation to O_2	aerobic	aerobic	aerobic
Colony	viscid	viscid-butyrous	butyrous
Fluorescin	—	—	—
Hydrolysis of gelatin	+～—	+～—	—～+
Action on litmus milk	reduced	reduced	
Reduction of nitrate	reduced	reduced	reduced
Production of ammonium	+	+	
indole	—	—	—
H_2S	—	—	
leavan	—	—	
Acid from gluose	+	+	
lactose	+	+	
sucrose	—	—	
rhamnose	—	—	+
Methyl red test	—	—	
Tween 80 hydrolysis	+	+	
Lecithinase activity	+	+	—
Oxidase activity	—	D**	+
Arginine dihydrolase	—	—	
4% salt tolerance	—	±	
Growth max.	42°C	above 40°C	above 42°C
min.	10～15°C	8～12°C	
opt.	30°C	28°C	

* 三個分離菌株代號分別為 B_9、O_1及P_4.。
Three isolates were isolate B_9、O_1 and P_4.

** 處理20秒後有正反應，若僅觀察10秒則為負反應。
Reaction was only observed 20 sec. or longer after treatment.

討論與結論

由 *Pseudomonas glumae* 引起之稻細菌性穀枯病於1956年日本首度報告[5]後，遂受該國極爲重視。據推測可能早於 1950 年日本即有本病發生[2]。相似地，筆者等及徵詢多位稻作病害研究者之田間經驗，均一致推測本病可能早已存於本省，但未被試驗及報告而已。究其被忽略之原因，可能係本病之穀粒外部病徵與其他由眞菌引起之穀枯病頗爲相似，需要仔細觀察方能區別兩類病害之差異。本病病穗之穗軸及枝梗皆健全而呈綠色；眞菌性穀枯病往往同時爲害穗軸及枝梗，呈現枯萎病徵。近年來，本田期穀粒病害頗爲普遍，何種病原較爲重要？則尙未見諸報告。

本研究經純化得到細菌菌株，再依柯氏法則（Koch's Postulates）證實它確爲病原菌。第一次接種結果顯示，套袋可提高發病率，但接種未套袋亦可得到顯著的發病。因此，第二次接種區未加套袋，使其較接近自然感染環境。第二次接種區係接種後25天調查，穀粒已近成熟期，因此同一菌株（O_1）之發病率較第一次接種之15天後調查之發病率爲高。同時，對照區亦有 4.5% 之發病，與一般農田第二期稻作穀粒發病率相似。

由表 3 所列各項生理試驗結果，與前人研究結果[6,7]比較，得知本研究所得之病原菌（簡稱本菌）與 *P. glumae* 較爲相近；而與 *P. alboprecipitans* 不同。區別點在於前兩者不能由鼠李醣（rhamnose）產生酸，而後者能；前兩者 lecithinase activity 爲正反應，而後者爲負反應。所有測定項目中，本菌僅 oxidase activity 與 *P. glumae* 稍有不同，但本試驗係觀察20秒所得之延遲性正反應，若只觀察10秒（富永[7]）則結果爲負反應，又與富永[7]所得結果一致。因此，本菌應屬 *P. glumae.* 。

前人研究發現本病病原菌除可引起本田期水稻穀枯病外，在日本尙引起箱育秧苗腐敗症，爲一日趨嚴重之秧苗新病害[1,3,4,8,9,10,11]。本病於本省屬首次報告，其生態分佈及危害情形未甚明瞭，尙待進一步探討。

參考文獻

1. 吉村大三郎、植松勉 1977 籾枯細菌病菌によるイネ苗腐敗症について（講要）。日植病報43（1）：116
2. 後藤孝雄 1978 イネもみ枯細菌病。農藥研究24（3）：32～37
3. 後藤孝雄、渡邊文吉郎 1978 イネもみ枯細菌病の發生と耕種條件との關係（講要）。日植病報44（3）：383
4. 後藤孝雄 1981 イネもみ枯細菌病菌による幼苗腐敗症の耕種的防除（講要）。日植病報47（3）：397～398
5. 後藤和夫、大畑貫一 1958 稻籾枯性細菌病。日植病報23（3）：155
6. 栗田年代、田部井英夫 1967 イネもみ枯細菌病の病原細菌について（講要）。日植病報33（2）：111
7. 富永時任 1971 日本における牧草および飼料作物の病害に關する研究。農技研報 C-25：205～306.
8. 植松勉、吉村大三郎、西山幸司、茨木忠雄、藤井溥 1976 イネもみ枯細菌による育苗箱の幼苗腐敗症の發生。日植病報42（3）：310～312
9. 植松勉、吉村大三郎、西山幸司、茨木忠雄、藤井溥 1976 育苗箱のイネ幼苗に腐敗症をおこす病原細菌について。日植病報42（4）：464～471
10. 遠藤賴嗣 1982 中苗育苗における籾枯細菌病菌による苗腐敗症の發生について。今月の農藥26（4）：25～30
11. 對馬誠也、茂木靜夫、內藤秀樹 1981 イネもみ枯細菌病の穗における發病經過（講要）。日植病報 48（3）：397
12. Society of American Bacteriologists. 1957. Manual of Microbiological Methods. 5th ed. Mc Graw Hill Book Co., New York 315pp.

Bacterial Grain Rot of Rice—A New Disease in Taiwan[1]

C. C. Chien[2], Y. C. Chang[2], Y. M. Liao[2] and S. H. Ou[3]

Summary

In central and shouthern Taiwan, a new disease of rice was found at the milky stage of second crop in 1982. Based on the symptomology, morphology and physiology of the pathogen, the disease is identified as bacterial grain rot of rice caused by *Pseudomonas glumae*. The diseased grains scattered on the panicles, but in severe cases more than half of the grains may be attacked. The sterile lemmas of infected grains were purplish brown to deep purplish brown, however, the branches remained green. Infected grains were shrunk and pale green first, then became dirty grey with age and finally turned to yellowish brown to deep brown and dried up. The infected part of hulled rice was grey, yellowish brown, or deep brown with a clear cut from the health part. Thirteen isolates of bacteria were isolated from diseased grains collected at different locations. According to the results of inoculation and reisolation tests, all isolates were considered the pathogen of grain rot as suggested by Koch's Pospulates. Three (i. e., B_9, O_1 & P_4) out of the 13 isolates were selected and used for physiology and morphology studies. The three isolates were all Gram-negative, rod shaped, monotrichous and aerobic. They formed white viscid colonies on nutrient agar, liquefied gelatin, reduced litmus milk and nitrate, produced ammonia, hydrolyzed Tween 80, produced lecithinase, grew on 4% salt slightly, delayed the reaction of oxidase activity 20 seconds after treament, and not reacted to methyl red test. No arginine hydrolase, fluorescin, H_2S, indole, or leavan production was observed. The maximum temperature for the growth is higher than 40°C; optimum, 28°C; minimum, 8—12°C.

1. Contribution No. 1134 from the Taiwan Agricultural Research Institute.
2. Senior Plant Pathologist, Asistant Plant Pathologists, respectively, Department of Plant Pathology, TARI, Wufeng, Taichung, Taiwan, ROC.
3. Special Chair, National Science Council, ROC.